

На правах рукописи

КАРШОК
Владимир Борисович

**ПРИМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ
ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНО-РЕКОНСТРУКТИВНОЙ
ХИРУРГИИ ПОЛОСТИ РТА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.14 – стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Краснодар – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант: доктор медицинских наук
Перова Марина Дмитриевна.

Официальные оппоненты:

Дурново Евгения Александровна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии с курсом пластической хирургии, заведующая кафедрой;

Ярёменко Андрей Ильич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, заведующий кафедрой;

Трунин Дмитрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт профессионального образования, кафедра стоматологии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 18 февраля 2020 г. в 09.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.038.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4, тел. (861) 262-50-18).

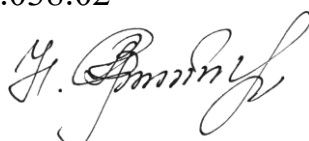
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 года.

Учёный секретарь

диссертационного совета Д 208.038.02

доктор медицинских наук,
доцент



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Качественная реабилитация пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными изменениями зубочелюстной системы, включающая полную коррекцию анатомических, функциональных и эстетических недостатков, остается актуальной медико-социальной проблемой. Из общего числа обратившихся за стоматологической помощью около 60 % страдают воспалительными заболеваниями пародонта, у трети из них диагностируются тяжелые формы хронического пародонтита с прогрессирующим разрушением околозубных опорных тканей (Грудянов А.И., 2008; Орехова Л.Ю., Чибисова М.А., Серова Н.В., 2013; Шафеев И.Р. и соавт., 2014). Более 40 % операций в практике хирурга-стоматолога занимают вмешательства по поводу одонтогенных кист, при этом частота рецидивов воспалительно-деструктивного процесса за последнее десятилетие существенно не изменилась и достигает 62 % (Семкин В.А., Зарецкая А.С., 2010; Щипский А.В., Годунова И.В., 2016; Morgan T.A. et al., 2005). Растет продолжительность жизни населения, с возрастом, по данным скринингового исследования, увеличивается не только абсолютное количество отсутствующих зубов, но и степень дегенеративных изменений костной ткани челюстей (Бондаренко Н.А., Лосев Ф.Ф., Бондаренко А.Н., 2010). У большинства пациентов с приобретенной адентией наблюдается выраженная атрофия альвеолярного гребня, что не позволяет выполнить дентальную имплантацию без реконструкции опорной кости (Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016; Кулаков А.А. и соавт., 2017; De Groot R.J. et al., 2018).

Клинические наблюдения свидетельствуют, что перспективы улучшения результатов восстановления значительно поврежденных или реконструкции полностью утраченных опорных тканей пародонта и челюстей только за счет оптимизации техники аутотрансплантации, совершенствования технологии обработки аллогенных тканей, синтеза новых имплантационных материалов, в основном, исчерпаны (Алиев С.Э., Назарян Д.Н., Мельников Д.А., 2013; Семченко В.В. и соавт., 2013; Калакуцкий Н.В. и соавт., 2016; Mertens C. et al., 2014). Анализ причин ограниченной эффективности стандартных подходов свидетельствует о необходимости дальнейшего усовершенствования технологии хирургических вмешательств с учетом местных анатомо-физиологических

особенностей и на основе современных достижений регенеративной биологии и медицины.

Степень разработанности темы. Одним из перспективных направлений развития восстановительно-реконструктивной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии считается внедрение регенеративных и тканеинженерных технологий с применением стволовых/стромальных клеток (Деев Р.В. и соавт., 2007; Киселева Е.В. и соавт., 2009; Миланов Н.О. и соавт., 2014; Семенов М.Г., Степанова Ю.В., Трощиева Д.О., 2016; Kuci S. et al., 2012; Jazayeri H.E. et al., 2017). Как правило, источником клеточного материала для реализации таких технологий служат собственные ткани взрослого человека, включая костный мозг и жировую ткань (Кулаков А.А. и соавт., 2008; Мамонов В.Е. и соавт., 2010; Kokai L.E. et al., 2014). Показано, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани (ММСК-ЖТ) легкодоступны, обладают значительной пластичностью и под влиянием факторов микроокружения способны дифференцироваться в клетки, имеющие мезенхимальное происхождение, а также в особых условиях *in vitro* – в клетки эктодермального и энтодермального фенотипов (Трактурев Д.О. и соавт., 2006; Zuk P.A. et al., 2002; Strem B.M. et al., 2005; Frazier T.P. et al., 2016; Lewallen E.A. et al., 2016; Lo Furno D. et al., 2018).

В ряде доклинических исследований продемонстрирована возможность восстановления кости с помощью трансплантации тканеинженерных конструкций на основе культуры ММСК-ЖТ (Алексеева И.С. и соавт., 2012; Бухарова Т.Б., 2014; Haghighat A. et al., 2011; Wilson S.M. et al., 2012; Streckbein P. et al., 2013; Lee M.K. et al., 2015; Alvira-Gonzalez J. et al., 2016). Вместе с тем имеется ряд объективных причин, затрудняющих широкое внедрение в медицинскую практику регенеративных технологий с применением клеточных культур, полученных вне организма человека, включая вопросы биобезопасности (Жукоцкий А.В., Мелерзанов А.В., 2010; Boguest A.C. et al., 2005; Wang Y. et al., 2005; McLean A.K. et al., 2015).

Стромально-васкулярная фракция жировой ткани (СВФ-ЖТ) представляет собой гетерогенный комплекс нативных клеток и рассматривается многими как перспективный мультифункциональный регенеративный ресурс для клинического применения (Веремеев А.В. и соавт., 2016; Han S. et al., 2015; Guo J.

et al., 2016; Nguyen A. et al., 2016; Simonacci F., Bertozzi N., Raposio E., 2017). В состав СВФ-ЖТ входят ММСК-ЖТ (от 1,5 % до 25 % от общего числа ядро-содержащих клеток), гладкомышечные и эндотелиальные васкулярные клетки, макрофаги и лимфоциты (Zimmerlin L. et al., 2010; Alexander R.W., 2016; Bora P., Majumdar A.S., 2017). Описан широкий спектр ангиогенных, противовоспалительных, иммуномодулирующих цитокинов и факторов роста, секретлируемых клетками СВФ-ЖТ (Hirose Y. et al., 2018).

Представлены положительные результаты применения СВФ-ЖТ при трофических и дегенеративных повреждениях мягких тканей разной локализации (Василевич И.Б. и соавт., 2015; Терюшкова Ж.И. и соавт., 2016; Kuo Y.R. et al., 2016; Philandrianos C. et al., 2018). Проводятся попытки замещения костных дефектов черепно-челюстно-лицевой области тканеинженерными конструкциями, включающими свежевыделенную СВФ-ЖТ (Sandor G.K. et al., 2014; Manimaran K. et al., 2016; Pellacchia V. et al., 2016; Prins H.J. et al., 2016).

Однако до сих пор нет полной ясности относительно остеогенных свойств СВФ-ЖТ. Остается дискуссионным вопрос о клинически приемлемой методике выделения этого клеточного материала. Представленные в литературе единичные и разрозненные наблюдения не позволяют оценить эффективность и безопасность применения СВФ-ЖТ в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. Не уточнены показания, отсутствуют рекомендации по методике применения СВФ-ЖТ в зависимости от характеристик дефекта.

Разработка данной проблемы позволит вывести на качественно новый уровень эффективность лечения и реабилитации пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными заболеваниями зубочелюстной системы.

Цель исследования: улучшить результаты лечения и реабилитации пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными заболеваниями зубочелюстной системы путем совершенствования хирургических методов восстановления и реконструкции опорных тканей полости рта.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальную модель восстановления костной ткани для сравнительного изучения регенераторного остеогистогенеза в условиях внесения в область объемного челюстного дефекта свежевыделенной аутологичной СВФ-ЖТ.

2. Изучить рентгенологические и морфологические особенности экспериментальной остеорегенерации с применением СВФ-ЖТ; на основе полученных результатов оценить регенераторный потенциал и возможность использования СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта.

3. Разработать протокол обработки жировой ткани для выделения СВФ-ЖТ с повышенной иммунологической и инфекционной безопасностью, адаптировать методику к применению в практическом здравоохранении.

4. С помощью цитоморфологических и иммуноцитохимических тестов изучить клеточно-тканевый состав фракции, определить иммунофенотип, число и жизнеспособность клеток СВФ-ЖТ, выделенной по собственной методике.

5. Обосновать медицинские показания и разработать методику использования СВФ-ЖТ при лечении остеодеструктивных форм хронического пародонтита, замещении объемных дефектов челюстей после удаления одонтогенных кистозных образований, аугментации/реконструкции кости при атрофии челюстного альвеолярного гребня.

6. В сравнительном исследовании оценить прирост уровня зубодесневого прикрепления в пародонтальных дефектах разной топографии в зависимости от способа лечения. В гистоморфологическом исследовании верифицировать структуру восстановленных околозубных тканей; в иммуногистохимическом исследовании с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиальных прогениторных клеток CD34 оценить активность процессов васкуляризации в пародонтальном регенерате.

7. Провести клинико-рентгенологическую оценку эффективности разработанной методики лечения радикулярных кист и кистогранулем, привести доказательства функциональной полноценности восстановленной кости. В гистоморфологическом исследовании выявить особенности структуры тканевого регенерата в зависимости от способа лечения кистозных образований челюстей.

8. Оценить эффективность применения СВФ-ЖТ для восстановления объема атрофированного альвеолярного гребня челюстей перед дентальной имплантацией, включая сравнительный анализ частоты и структуры послеоперационных осложнений, полученного прироста костной ткани, первичной остеointеграции искусственных опор и стабильности кости в нагрузочном периоде готовой орто-

педической конструкции, совокупной «выживаемости» дентальных имплантатов в отдаленные сроки наблюдений. Сравнить основные гистоморфометрические показатели субантрального остеорегенерата после синуслифтинга с применением ординарных и содержащих СВФ-ЖТ остеопластических материалов.

9. На основе комплексного анализа результатов исследования обосновать целесообразность внедрения разработанных методов восстановительно-реконструктивной хирургии пародонта и челюстей в широкую клиническую практику.

Научная новизна исследования. Разработана оригинальная экспериментальная модель для изучения влияния локальных привносимых факторов на регенерацию костной ткани. Получены новые сведения об особенностях восстановления челюстной кости в условиях аутотрансплантации СВФ-ЖТ в зону дефекта.

На основании полученных данных разработан способ остеопластики, включающий аутотрансплантацию СВФ-ЖТ (патент РФ на изобретение № 2336841 от 26.10.2006).

Предложена стандартизованная, малоинвазивная методика получения персонифицированного минимально манипулированного клеточного материала для клинического применения в регенеративных целях – аутологичной СВФ-ЖТ.

Предложена методика приготовления полнофункционального костнопластического материала, включающего комбинацию биорезорбируемого остеозамещающего матрикса, аутологичного минимально манипулированного клеточного материала в виде СВФ-ЖТ, а также источника естественных остеоиндуктивных стимулов в виде аутологичной костной крошки.

Разработан клеточно-потенцированный способ восстановления кости альвеолярного гребня челюсти и тканей пародонта с редуцированным регенераторным потенциалом, включающий аутотрансплантацию СВФ-ЖТ в изолированном состоянии или в составе костнопластического материала (Патент РФ на изобретение № 2320285 от 10.05.2006).

Предложен метод выбора для замещения пародонтальных дефектов с неблагоприятной топографией – супраальвеолярных и фуркационных.

Впервые выполнен тонкий аппаратурный анализ функционального состояния опорного аппарата зубов после лечения хронического пародонтита новым способом.

Впервые изучена морфологическая картина пародонтального регенерата, формирующегося в ранние сроки заживления в присутствии СВФ-ЖТ.

Впервые в иммуногистохимическом исследовании с молекулярным маркером эндотелиальных прогениторных клеток CD34 изучена активность васкулогенеза в восстанавливаемых тканях пародонта после аутотрансплантации СВФ-ЖТ.

Разработана новая методика лечения одонтогенных кистозных образований челюстей, включающая клеточно-потенцированную остеопластику постцистэктомических объемных костных дефектов.

Впервые проведена гистоморфологическая верификация регенерата, замещающего челюстной дефект в разные сроки после лечения одонтогенных кистозных образований новым способом.

Методом периотестометрии впервые проведена объективная оценка функционального состояния опорного аппарата сохраненных причинных зубов у пациентов в разные сроки после лечения одонтогенных кистозных образований.

Предложен способ предимплантационной реконструкции атрофированного альвеолярного гребня челюстей с применением содержащих СВФ-ЖТ остеозамещающих материалов.

Впервые проведена комплексная сравнительная оценка эффективности нового способа реконструкции атрофированного альвеолярного гребня челюстей с применением СВФ-ЖТ, включающая анализ послеоперационных осложнений, размеров и гистоморфометрических характеристик реконструированной кости, периимплантатной маргинальной костной потери, первичной остеоинтеграции и долгосрочной «выживаемости» установленных в реконструированную кость дентальных имплантатов.

Теоретическая и практическая значимость. На основании результатов проведенных исследований представлено научное обоснование и предложены пути реализации нового направления в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта, заключающегося в целенаправленном улучшении регенераторных способностей хирургически модифицируемых тканей организма или имплантируемых биоматериалов с помощью аутологичного ресурса мультипотентных клеток и трофических факторов – стромально-васкулярной фракции жировой ткани.

Внедрение материалов исследования в практическое здравоохранение позволяет улучшить результаты лечения, снизить травматичность хирургических вмешательств, сократить сроки реабилитации, расширить медицинские показания за счет включения наиболее тяжелых форм патологии, снизить риск осложнений и рецидивов.

Методология и методы исследования. Исследование носит клинико-экспериментальный характер и, по заключению этического комитета Ставропольской государственной медицинской академии, выполнено в рамках утвержденных стандартов.

В экспериментальной части на морских свинках проведена проверка рабочей гипотезы об остеорегенераторных свойствах СВФ-ЖТ. Объект эксперимента – репаративная регенерация костной ткани. Предмет эксперимента – особенности морфологической картины, качественных и количественных показателей остеорепаляции в условиях трансплантации СВФ-ЖТ в костный дефект. Использовались морфометрический, рентгенологический и гистологический методы исследования.

Клиническая часть выполнена в дизайне проспективного контролируемого исследования результатов хирургического лечения: 1) больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени; 2) пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей; 3) пациентов с приобретенной адентией и выраженной атрофией челюстного альвеолярного гребня, нуждающихся в стоматологической реабилитации с применением внутрикостных дентальных имплантатов. Эффективность нового способа лечения оценивали путем анализа динамики показателей каждой группы, сравнения показателей основной и контрольной групп, а также сопоставления собственных результатов с данными литературы. Применялись клинический, рентгенологический, гистологический, иммуногистохимический, гистоморфометрический и статистический методы исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Прямое внесение СВФ-ЖТ в микроокружение объемных тканевых дефектов индуцирует мощный пролиферативный ответ и дифференцировку привнесенных *in situ* клеточных форм, высокую степень неоваскуляризации первичного межклеточного матрикса с последующим формированием на этой основе органотипического регенерата.

2. Полученные по усовершенствованному протоколу образцы СВФ-ЖТ, в ходе изучения морфологического состава и иммунофенотипа, подтверждают корректность процессинга липоасpirата с высокой эффективностью выхода гетероморфных ядродержащих клеточных форм, включая жизнеспособные пластик-адгезивные фибробластоподобные клетки с экспрессией маркеров ММСК и синтетической активностью *in vitro*.

3. Активация (витализация) неорганических биорезорбируемых остеозамещающих матриц с помощью комбинирования с аутологичной СВФ-ЖТ способствует васкуляризации и остеогенному ремоделированию материала при внесении в зону тканевого дефекта, улучшает ближайшие и отдаленные результаты костной пластики.

4. Применение аутологичной СВФ-ЖТ способно существенно повысить эффективность восстановительно-реконструктивного хирургического лечения пациентов с тканевыми дефектами вследствие периодонтальных и периапикальных воспалительно-деструктивных процессов, а также регрессивной трансформации беззубого челюстного альвеолярного гребня.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов определяется достаточным количеством экспериментальных и клинических наблюдений, наличием сопоставимых групп сравнения, применением широкого спектра современных объективных методов исследования, качественной статистической обработкой разнообразными методами, адекватными типу анализируемых данных.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на следующих научных форумах: XII Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 22–24 мая 2007 г.); XIV конгрессе Международной конфедерации пластической, реконструктивной и эстетической хирургии (Берлин, 26–30 июня 2007 г.); XIII Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 20–22 мая 2008 г.); XV Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 17–19 мая 2010 г.); Общероссийской научно-практической конференции стоматологического факультета КубГМУ «Современные вопросы стоматологии» (Краснодар, 20–22 мая 2010 г.); XVI Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые

технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 16–18 мая 2011 г.); Первом конгрессе Международного общества пластической регенеративной хирургии (Рим, 9–11 марта 2012 г.); конференции «Регенеративная хирургия» (Челябинск, 23–24 сентября 2016 г.); научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и имплантологии» (Краснодар, 26–27 октября 2017 г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Краснодар, 11–12 октября 2018 г.); II Международной конференции по регенеративной хирургии (Челябинск, 22–24 ноября 2018 г.); XXIV Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 14–16 мая 2019 г.).

Апробация работы состоялась на совместном заседании кафедр хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, терапевтической стоматологии, стоматологии, пропедевтики стоматологических заболеваний, стоматологии общей практики и детской стоматологии, общей хирургии, госпитальной хирургии, факультетской хирургии, поликлинической хирургии с курсом урологии, хирургии и эндохирургии с курсом сосудистой хирургии и ангиологии, патологической физиологии, общей и биологической биохимии Ставропольского государственного медицинского университета.

Публикации. Всего по материалам диссертации опубликована 41 работа, в том числе 24 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним, в том числе 5 работ в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и WoS, и 2 патента РФ.

Реализация результатов исследования. Разработанные методы хирургического восстановления опорных тканей зубочелюстной системы, включающие аутотрансплантацию СВФ-ЖТ, применяются в следующих медицинских учреждениях: ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ «Краевая клиническая стоматологическая поликлиника» министерства здравоохранения Краснодарского края, стоматологическая поликлиника ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Научные положения диссертации используются в учебном процессе на кафедрах хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии КубГМУ, СтГМУ,

ЮУГМУ, СЗГМУ им. И.И. Мечникова; стоматологии № 1 РостГМУ; пародонтологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Личный вклад автора в исследование. Автор лично выполнил аналитический обзор литературы, выбор материала и методов исследования, разработал экспериментальную модель для изучения репаративного остеогистогенеза и провел серию оперативных вмешательств на морских свинках, усовершенствовал и апробировал протокол выделения СВФ-ЖТ из жировой ткани пациентов, оперировал сам и принимал непосредственное участие в выполнении оперативных вмешательств в клинике, осуществил систематизацию и анализ данных экспериментальных и клинических наблюдений, участвовал в обсуждении и интерпретации данных цитологических и морфологических исследований, сформулировал выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 319 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований с обсуждением результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа содержит 73 рисунка, 29 таблиц. Список литературы включает 574 источника, из них 191 на русском и 383 на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Экспериментальная часть работы проведена на морских свинках 8–10-месячного возраста с массой тела 600–800 г. Содержание животных, проведение операции и выведение из эксперимента осуществлялись в соответствии с принципами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985). СВФ-ЖТ получали из липоасpirата паховой жировой подушки животного в соответствии с методикой, приведенной в работах Р. Zuk с соавт. (2001). Корончатой фрезой формировали билатеральные симметричные сквозные дефекты в области углов нижней челюсти диаметром 5 мм. Трансплантат из СВФ-ЖТ с добавлением минимального количества костной крошки в качестве индуктора остеогенной дифференцировки вводили в левосторонний дефект. Правосторонний дефект, заполненный только эквивалентным количеством костной крошки, служил контролем. Через 12 недель животных усыпляли введением летальной дозы тиопентала натрия, препарировали и проводили сравнительный

анализ рентгенологических и морфологических характеристик замещивших дефект тканей.

Клиническое исследование основано на наблюдении 411 пациентов с разными по топографии и объему дефектами опорных тканей внутриротовой локализации, включая 158 больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени (ХПСТС), 112 пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей (ОКОЧ), 141 пациента с вторичной адентией и сопутствующей атрофией альвеолярного гребня челюстей (ААГЧ). Лечение проводилось в МБУЗ «Стоматологическая поликлиника № 3» г. Краснодара, в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ и в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» (НИИ–ККБ № 1) в период 2003–2019 гг. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В зависимости от особенностей лечебной тактики при каждой нозологии выделены две группы сравнения: в основную группу (ОГ) вошли случаи хирургического лечения по новой клеточно-потенцированной методике с применением аутологичной СВФ-ЖТ; контрольную группу (КГ) составили случаи традиционного общепринятого лечения. Общая характеристика клинического материала отражена в таблице 1.

Таблица 1 – Общая характеристика клинического материала

Нозология	Возраст пациентов, Me [Q ₁ ;Q ₃], лет	Пол, жен/муж, %	Основная группа, пациентов/операций	Контрольная группа, пациентов/операций
ХПСТС	42 [38; 45]	52,5/47,5	95/95	63/63
ОКОЧ	52 [48; 56]	39,3/60,7	52/58	60/67
ААГЧ	57 [52; 63]	56,7/43,3	68/112	73/117

Примечание: ХПСТС – хронический пародонтит средней и тяжелой степени; ОКОЧ – одонтогенные кистозные образования челюстей; ААГЧ – атрофия альвеолярного гребня челюстей.

Статистически значимых различий сравниваемых групп по возрастнополовой структуре пациентов не было ($p > 0,05$).

Оперативному вмешательству предшествовала консервативно-гигиеническая фаза, включающая санацию ротовой полости с контролем навыка индивидуального ухода за зубами и деснами, иммобилизацию подвижных

зубов, изготовление защитных временных ортопедических конструкций на период хирургического лечения и реабилитации.

Первый этап лечения пациентов ОГ – аспирационный забор подкожной жировой ткани – проводился в отделении пластической хирургии. Под местной инфильтрационной тумесцентной анестезией выполняли шприцевую аспирацию 40–120 мл подкожной жировой ткани из гипогастральной области и флангов. Липоаспират промывали стерильным физиологическим раствором с антибиотиком широкого спектра действия и передавали вместе с 10–20 мл сыворотки крови пациента в лабораторию. До 2018 г. СВФ-ЖТ выделяли в условиях операционной, а с 2018 г. – в лаборатории НИИ-ККБ № 1 (г. Краснодар), отвечающей всем требованиям стандарта GMP.

Методика выделения СВФ-ЖТ. Порцию липоаспирата объемом 40–50 мл доводили до 60 мл физиологическим раствором, содержащим лиофилизат фермента коллагеназы 50 мг (активность 180–290 ед/мг), и переносили в стерильный пластиковый контейнер. После экспозиции в жидкостном термостате в течение 20 мин при 37°C получали клеточно-диссоциированную жировую ткань, распределяли ее по пробиркам и центрифугировали в течение 20 мин на скорости 2750–3000 об/мин. Аспирировали верхний слой флотирующих адипоцитов и свободных липидов, сливали надосадочную жидкость. Осадок из СВФ-ЖТ ресуспендировали аутологичной сывороткой крови и последовательно собирали из всех пробирок. Промывали, центрифугировали и окончательно ресуспендировали аутологичной сывороткой крови. Для оценки качественного и количественного состава полученной СВФ-ЖТ проводили цитологическое исследование, по результатам которого оформляли спецификацию с указанием числа клеток и их жизнеспособности. Материал вместе со спецификацией передавали из лаборатории в клинику для дальнейшего использования.

При ХПСТС потеря зубодесневого прикрепления (ЗДП) в среднем по группе составляла $7,80 \pm 0,22$ и $7,32 \pm 0,17$ мм в ОГ и КГ соответственно ($p = 0,086$). Распределение материала по видам пародонтальных дефектов и величине потери ЗДП отражено в таблице 2.

По исходным параметрам состояния ротовой полости и пародонтального статуса, топографическим видам пародонтальных дефектов структура наблюдаемых групп не имела статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Таблица 2 – Исходная потеря зубодесневого прикрепления (в мм) при разных видах пародонтальных дефектов

Вид дефекта	Основная группа		Контрольная группа		p
	M ± m	n	M ± m	n	
Внутрикостный	7,95 ± 0,18	261	7,51 ± 0,17	186	0,076
Супраальвеолярный	7,69 ± 0,21	194	7,28 ± 0,18	102	0,139
Фуркационный	7,77 ± 0,22	127	7,26 ± 0,2	88	0,089

Доступ и обработку пародонтальных карманов выполняли по общепринятому протоколу операции направленной регенерации тканей пародонта (НРТП). Санированные пародонтальные дефекты в ОГ заполняли СВФ-ЖТ, в КГ для этой цели использовали сгусток крови из костномозговых пространств и витальной периодонтальной связки. В обеих группах при глубоких и широких костных пародонтальных дефектах дополнительно вводили гранулированный остеокондуктор (Биосит-Элкор, Санкт-Петербург; Bio-Oss, Швейцария; Bone Ceramic, Швейцария). Изоляцию очага регенерации осуществляли биосовместимой барьерной мембраной из политетрафторэтилена (Экофлон, Санкт-Петербург). Слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и рану тщательно ушивали. Послеоперационный уход включал антисептическую обработку полости рта, местные аппликации антибактериальным гелем. Швы удаляли на 12-е сутки. Время нахождения мембран в тканях – от 2 до 8 недель.

При ОКОЧ структура наблюдаемых групп по локализации кистозных образований статистически значимых различий не имела ($p > 0,05$). По размерам деструкции челюстной кости имелись различия ($p < 0,001$): в ОГ преобладали костные дефекты размерами 21–30 мм, тогда как в КГ чаще отмечались дефекты небольших размеров – менее 10 мм (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение костных дефектов челюстей по размерам при одонтогенных кистозных образованиях

Размеры дефекта (по наибольшему диаметру), мм	Основная группа		Контрольная группа		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
< 10	5	4,0	36	28,8	41	32,8
10–20	18	14,4	23	18,4	41	32,8
21–30	26	20,8	2	1,6	28	22,4
> 30	9	7,2	6	4,8	15	12
Итого:	58	46,4	67	53,6	125	100

Доступ и энуклеацию кистозных образований выполняли общепринятым способом. Проводили кюретаж полости до здоровых костных структур, оголенные корневые поверхности обрабатывали гелем на основе ЭДТА. В ОГ костные дефекты небольшого размера (до 20 мм наибольшим диаметром) заполняли только СВФ-ЖТ. Для пластики костных дефектов средних размеров (20–30 мм) использовалась СВФ-ЖТ с добавлением измельченной кости, взятой у пациента во время операции из внутриротовых донорских участков. Для устранения больших костных дефектов (более 30 мм), в том числе с повреждением одной или обеих кортикальных пластинок челюстей, дополнительно к СВФ-ЖТ и костной крошке в состав трансплантата вводили гранулированный остеокондуктор (Bio-Oss, Швейцария), костное окно перекрывали резорбируемой коллагеновой мембраной (Bio-Gide, Швейцария). В конце операции слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и рану ушивали без натяжения. В КГ при небольших и средних размерах костного дефекта заживление проводили под кровяным сгустком или с использованием остеозамещающего материала в сочетании с барьерной мембраной; при больших размерах применяли цистотомию. При выписке назначали таблетированные противовоспалительные средства, полоскания рта антисептическими растворами. Швы снимали через 2 недели после операции.

При ААГЧ, по результатам дооперационной компьютерной томографии, степень дефекта соответствовала категории С (недостаточная кость) и категории D (выраженный дефицит костной ткани) по классификации Misch и Judi (Misch С.Е., Judy К. W., 1987). Средние значения остаточной высоты альвеолярного гребня составляли $5,04 \pm 0,16$ и $5,49 \pm 0,17$ мм ($p = 0,055$), остаточной ширины $3,13 \pm 0,06$ и $3,46 \pm 0,01$ мм ($p < 0,001$) в ОГ и КГ соответственно.

При сравнении структуры наблюдаемых групп по видам оперативных вмешательств и числу установленных дентальных имплантатов (ДИ) статистически значимые различия отсутствовали ($p > 0,05$) (таблица 4).

Синуслифтинг. Под проводниковой инфраорбитальной анестезией общепринятым способом выполняли открытый латеральный доступ к дну верхнечелюстного синуса. После поднятия мембраны и проверки ее целостности на дно синуса помещали ординарные (в КГ) или содержащие СВФ-ЖТ (в ОГ) гранулы остеокондуктивного материала (Bio-Oss, Швейцария; Calcitos, Италия). В зави-

симости от протяженности дефекта и степени атрофии кости объем материала колебался от 1,2 до 3,5 см³. Латеральное костное окно перекрывали барьерной коллагеновой мембраной, рану ушивали.

Таблица 4 – Виды реконструктивных операций и число установленных дентальных имплантатов у пациентов с атрофией альвеолярного гребня челюстей

Вид операции	Основная группа		Контрольная группа	
	операций	ДИ	операций	ДИ
Синуслифтинг открытый	55	154	52	147
Реконструкция альвеолярного отростка верхней челюсти	26	80	28	96
Реконструкция альвеолярной части нижней челюсти	31	68	37	75
Итого:	112	302	117	318

Примечание: ДИ – дентальный имплантат.

Реконструкция альвеолярного гребня челюстей. Под местной анестезией с предварительной медикаментозной седацией проводили разрез слизистой оболочки десны по вершине атрофированного альвеолярного гребня с продолжением по десневой борозде соседних зубов, делали послабляющий вертикальный разрез, значительно выходящий за пределы переходной складки. Распатором отслаивали полнослойный лоскут с мобилизацией, достаточной для первичного закрытия раны без натяжения. Кортикальную кость воспринимающего ложа перфорировали тонким шаровидным бором для стимуляции капиллярного кровотока и лучшей интеграции с костнопластическим материалом. В качестве каркасов использовали аутологичные кортикальные блоки толщиной до 1,5 мм, взятые из области наружной косой линии нижней челюсти и фиксированные к реципиентному кортексу винтами, или гетерологичные кортикальные блоки и костные пластины толщиной 200, 400 и 600 микрометров (Lamina, OsteoBiol, Италия; Osteopant Flex Cortical, BioTech, Италия). Подготовленную таким способом зону регенерации кости заполняли гранулированным остеозамещающим материалом ксеногенного происхождения (BioGen, Италия; Bio-Oss, Швейцария) и измельченной аутологичной костью, полученной трепаном из внутриротовых донорских участков. В КГ использовали ординарные костнопластические материалы, в ОГ такие же материалы комбинировали с аутологичной СВФ-ЖТ. Адаптацию и фиксацию реконструкта

проводили с помощью резорбируемых коллагеновых мембран (Heart, BioTech, Италия; OsteoBiol, Италия; Bio-Gide, Швейцария), помещаемых под расщепленный лоскут. Рану тщательно ушивали без натяжения. Швы снимали через 2 недели после операции.

Отсроченно через 6–8 месяцев после операции было установлено 620 внутрикостных ДИ с последующим изготовлением несъемных ортопедических конструкций. В работе применялись титановые остеointегрируемые ДИ с разным вариантом погружения в ткани – в уровень десны (359 имплантатов) и субкрестально (261 имплантат). Средний срок от остеопластики до имплантации составил 176 ± 28 и 215 ± 35 дней в ОГ и КГ соответственно ($p = 0,385$).

При оценке исходного состояния пациентов, планировании лечения и анализе его результатов использовался комплекс диагностических методов, включающий клинические, рентгенологические и аппаратурные исследования.

Для точного определения размеров дефекта и его конфигурации, степени атрофии кости, соотношения с прилежащими анатомическими структурами, а также состояния восстанавливаемого участка кости после операции, выполняли прицельную рентгенографию, радиовизиографию, ортопантомографию, компьютерную томографию.

Функциональное состояние опорного аппарата зубов до и после лечения ХПСТС и ОКОЧ оценивали с помощью периотестометрии.

Морфологическая верификация трансплантируемого материала и регенерировавших тканей проводилась с помощью современных цитологических и гистологических методов.

Для обзорного изучения СВФ-ЖТ (28 образцов) проведено исследование монослойных цитологических препаратов в окраске по способу Романовского. С целью верификации клеточного состава СВФ-ЖТ проведено культивирование образцов до первого пассажа с последующим определением иммунофенотипа прикрепившихся клеток с помощью панели маркеров: CD13, CD31, CD34, CD44, CD90, CD105, Pro-collagen I, Fibronectin, SMA, Desmin и C-kit. Число клеток и их жизнеспособность оценивали в образцах СВФ-ЖТ и в текущем клиническом материале с помощью автоматического счетчика клеток Countess (Invitrogen, США).

Морфологическая верификация регенерировавших тканей осуществлялась с помощью гистологического исследования препаратов нижней челюсти

экспериментальных животных ($n = 24$), биопсийного материала от пациентов из групп сравнения после лечения ХПСТС ($n = 28$), остеопластики постцистэктомических дефектов ($n = 35$), синуслифтинга ($n = 27$).

Количественную оценку восстановления кости в зависимости от состава трансплантата (с или без СВФ-ЖТ) проводили с помощью макроморфометрии остеозамещающих структур в области экспериментального дефекта и гистоморфометрического анализа трепанбиоптатов, полученных через 6 месяцев после синуслифтинга.

Активность процессов неоваскуляризации в восстанавливаемых тканях пародонта (15 секционных биоптатов) и в субантральном реконструкте верхней челюсти (18 трепанбиоптатов) изучали с помощью иммуногистохимической детекции маркера эндотелиальных прогениторных клеток CD34. Плотность микрососудов на тканевых срезах вычисляли в автоматическом режиме с использованием программы Image-Pro (Media Cybernetics, США).

В контрольные сроки 6, 12 и 24 мес. анализировали три категории показателей, включая: 1) частоту осложнений и положительных результатов; 2) выраженность клинических симптомов заболевания; 3) результаты аппаратурных, рентгенологических и лабораторных тестов. Вывод о превосходящей эффективности делался на основании статистически значимого превалирования в группе сравнения средних значений и относительных величин, ассоциированных с наилучшим исходом.

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа в соответствии с результатами проверки сравниваемых совокупностей на нормальность распределения. Для оценки нормальности распределения количественных данных использовались критерий Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 60) или критерий Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 60). В случае подтвержденного нормального распределения количественные показатели представлялись в виде средних арифметических величин (M) и стандартных ошибок (m). Количественные показатели, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и квартилей [$Q1$; $Q3$]. При сравнении количественных показателей в двух незави-

симых нормально распределенных совокупностях рассчитывался t-критерий Стьюдента. При отсутствии нормального распределения использовался U-критерий Манна-Уитни. При сравнении количественных показателей, рассчитанных для зависимых совокупностей, использовался парный t-критерий Стьюдента (при нормальном распределении данных) или критерий Уилкоксона (при отсутствии нормального распределения). Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия хи-квадрат Пирсона, а при числе ожидаемых наблюдений менее 5 – точного критерия Фишера. В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей использовался показатель относительного риска (ОР), отражающий, во сколько раз риск исхода при наличии фактора риска выше риска исхода при отсутствии фактора риска. Для сравнения относительных показателей, характеризующих связанные совокупности, использовался тест МакНемара. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментально-гистологическом исследовании на split-mouth модели дефекта нижней челюсти морских свинок изучено влияние СВФ-ЖТ на регенерацию костной ткани.

При макроскопии препаратов нижней челюсти обнаружены существенные различия между подвергшимися вмешательству симметричными участками кости одного и того же животного. Просвет дефекта, в который выполнялась трансплантация СВФ-ЖТ, был на 78–100 % заполнен новообразованной костной тканью со средним значением индекса восстановления кости (ИВК) 92 ± 8 %. На стороне контроля в большинстве случаев также наблюдалось уменьшение площади дефекта, но в гораздо меньшей степени (ИВК от 20 до 62 %, в среднем 42 ± 5 %, $p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента) и лишь за счет роста кости по краю дефекта (рисунок 1).

Рентгенологически на стороне эксперимента область дефекта более высокой плотности, чем на стороне контроля, и по денситометрическим характеристикам приближена к окружающей интактной кости. Контуры костного окна размыты, переход между новообразованной и материнской костной тканью определяется не

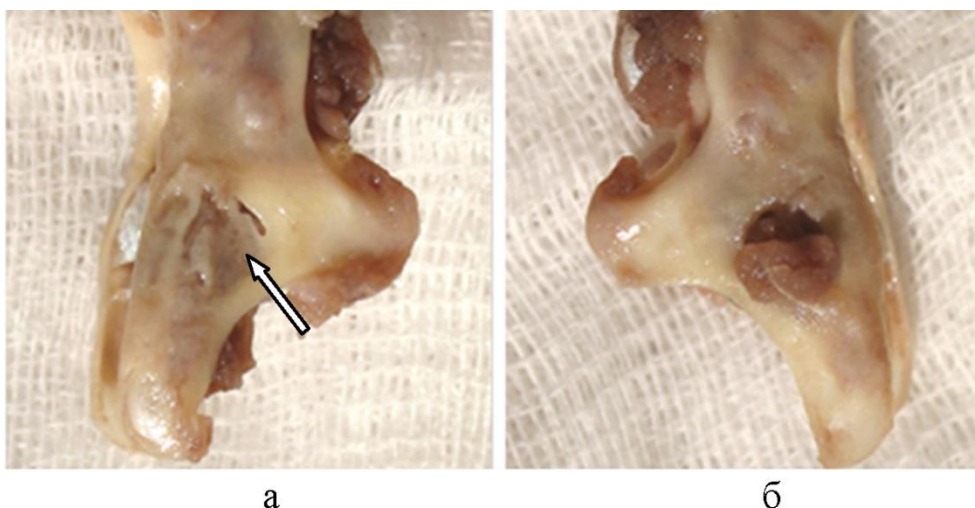


Рисунок 1 – Макропрепарат нижней челюсти морской свинки через 12 недель после остеопластики билатеральных симметричных дефектов: а) на стороне эксперимента дефект заполнен новообразованной костной тканью (показано стрелкой), ИВК 94 %;
б) на стороне контроля уменьшенный в диаметре дефект кости заполнен рубцовой и мышечной тканями, ИВК 40 %

езде. По данным прицельной радиовизиографии, плотность заполняющих дефект тканей составляла в среднем 108 ± 2 и 65 ± 6 ед. на экспериментальном и контрольном участках челюсти соответственно ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

По данным гистологических исследований, на стороне эксперимента дефект заполнен преимущественно зрелой минерализованной костной тканью. Ближе к центру дефекта новообразованная кость имеет наименьшую толщину и состоит из компактного вещества. Наблюдается формирование гаверсовых систем, характерных для пластинчатой костной ткани. Первичные и вторичные остеоны четко разграничены линиями цементации. Ремоделированная структура зрелой кости содержит большое количество витальных остеоцитов. От центра дефекта к периферии костный регенерат утолщается, между замыкательными пластинками появляется губчатое вещество с хорошо выраженными трабекулами и костномозговыми ячейками (рисунок 2).

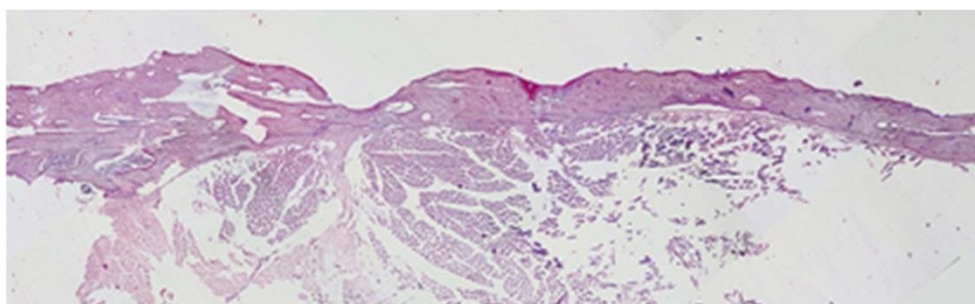


Рисунок 2 – Костная ткань, заместившая дефект нижней челюсти морской свинки. Эксперимент, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

На некоторых препаратах часть дефекта закрыта грубоволокнистой (ретикулофиброзной) костной тканью, которая при окраске пикрофуксином по Ван Гизону имеет красный оттенок и без четкой границы переходит в минерализованную кость регенерата.

На стороне контроля костного врастания в дефект не обнаружено (рисунок 3).

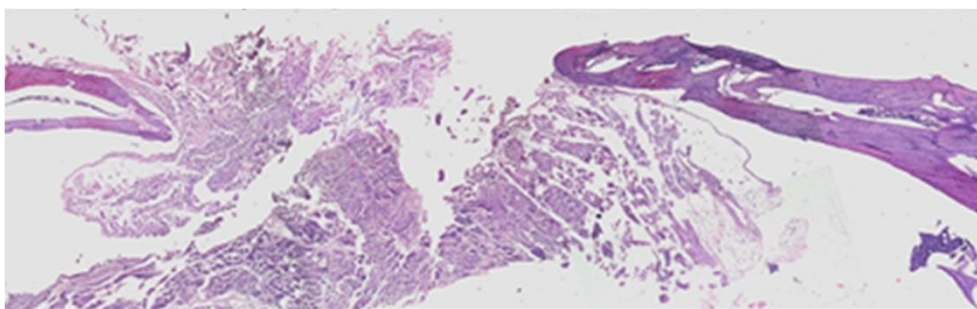


Рисунок 3 – Полиморфный регенерат в просвете сохранившегося дефекта нижней челюсти морской свинки. Контроль, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

В диастазе между краями дефекта визуализируется полиморфный регенерат, представленный рыхлой неоформленной соединительной и ретикулофиброзной костной тканями, встречаются секвестры некротизированной кости. По краю дефекта определяется слой новообразованной костной ткани по типу замыкательной пластинки, формирующей тонкий вырост к центру.

Известно несколько естественных источников регенерации костной ткани: 1) собственные детерминированные клеточные источники – расположенные в надкостнице преостеобласты, остеобласты; 2) периваскулярные клетки; 3) стволовые стромальные клетки красного костного мозга (Данилов Р.К., 2007). Учитывая идентичность вклада этих источников в заживление симметричных билатеральных челюстных дефектов в условиях split-mouth эксперимента, выявленные различия остеозамещения свидетельствуют о способности трансплантированной СВФ-ЖТ служить дополнительным эффективным ресурсом остеогенных клеток и стимулов.

Таким образом, результаты экспериментального исследования подтверждают высокие регенераторные свойства СВФ-ЖТ. Разработанный на основе результатов исследования способ остеопластики (патент РФ на изобретение № 2336841, приоритет от 26.10.2006) отличается от известных прототипов ма-

лой травматичностью, иммунологической и онкогенной безопасностью, и его принцип может применяться для совершенствования методов восстановительно-реконструктивной хирургии опорных тканей полости рта.

Проведена оценка качественных и количественных характеристик стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани людей по усовершенствованной методике.

По данным иммунофлуоресценции, в конце первого пассажа от 95 до 100 % клеток СВФ-ЖТ экспрессируют маркеры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК): CD13, CD44, CD90, CD105. Небольшое количество клеток (от 15 до 25 %) в образцах экспрессирует CD31 (маркер эндотелиальных клеток), C-kit (рецептор к фактору стволовых клеток SCF и некоторых других прогениторных клеток), десмин и гладкомышечный актин (маркеры мышечных клеток). CD34-позитивных клеток в культуре не обнаружено (маркер гематopoэтических стволовых клеток). Культивируемые клетки синтетически активны в отношении компонентов внеклеточного матрикса, таких как фибронектин и коллаген I (в клетках обнаружена экспрессия предшественника коллаген I типа – Pro-collagen I). Установленный фенотип соответствует известным характеристикам мезенхимальных стволовых клеток (Dominici M et al., 2006; Mildmay-White A., Khan W., 2017). Число клеток в пересчете на 1 мл обработанной жировой ткани составляет в среднем: ядродержащих – 2,1 млн с жизнеспособностью 78 %; прикрепившихся к пластику ММСК – 27 тыс. с жизнеспособностью 86 %.

Полученные результаты цитологических тестов свидетельствуют о корректности применяющегося в работе протокола обработки жировой ткани для получения СВФ-ЖТ.

Предлагаемый новый клеточно-потенцированный подход, объединяющий традиционные методы восстановительно-реконструктивной хирургии опорных тканей полости рта и технологию оптимизации локальных репаративных процессов в виде прямого внесения в область повреждения аутологичной СВФ-ЖТ или активации (витализации) ею остеокондуктивных костнопластических материалов, изучен в серии контролируемых клинических исследований.

В основной группе мы не наблюдали каких-либо специфических осложнений, связанных с онкогенной трансформацией тканей в месте транспланта-

ции СВФ-ЖТ или любой другой локализации, не отмечено отрицательных последствий липоаспирации в донорской области.

Применение СВФ-ЖТ в ходе операций направленной регенерации тканей пародонта существенно улучшило клинические, функциональные и эстетические результаты лечения больных ХПСТС.

Частота послеоперационных осложнений (инфицирование и частичный некроз регенерата) была значительно ниже в ОГ по сравнению с КГ: 2,1 % и 19,1 % соответственно ($p < 0,001$ по точному критерию Фишера).

После клеточно-потенцированной операции наблюдался ускоренный регресс воспалительных симптомов с долгосрочной стабилизацией клинических показателей состояния ротовой полости, таких как индекс гингивита, индекс кровоточивости, пародонтальный индекс.

Получен устойчивый прирост зубодесневого прикрепления (ЗДП). Через 2 года после операции его среднее значение в ОГ составило $5,66 \pm 0,02$ мм, что на 73 % больше соответствующего показателя КГ $3,27 \pm 0,03$ мм ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента), где проводилось такое же лечение, но без клеточной трансплантации.

Результаты лечения в зависимости от вида пародонтальных дефектов представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Прирост зубодесневого прикрепления (в мм) в группах сравнения в зависимости от вида пародонтальных дефектов

Вид дефекта	Срок наблюдения	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
ВКД	1 мес.	$6,22 \pm 0,01$	261	$4,34 \pm 0,05$	186	$< 0,001^*$
	6 мес.	$6,96 \pm 0,02$	254	$5,58 \pm 0,02$	178	$< 0,001^*$
	12 мес.	$6,98 \pm 0,02$	247	$5,60 \pm 0,02$	164	$< 0,001^*$
	24 мес.	$7,06 \pm 0,01$	228	$5,30 \pm 0,02$	142	$< 0,001^*$
САД	1 мес.	$3,98 \pm 0,02$	194	$2,32 \pm 0,06$	102	$< 0,001^*$
	6 мес.	$4,73 \pm 0,02$	189	$2,91 \pm 0,03$	96	$< 0,001^*$
	12 мес.	$4,78 \pm 0,02$	182	$2,89 \pm 0,02$	89	$< 0,001^*$
	24 мес.	$4,83 \pm 0,02$	172	$2,31 \pm 0,01$	77	$< 0,001^*$
ФД	1 мес.	$4,42 \pm 0,02$	127	$2,46 \pm 0,03$	88	$< 0,001^*$
	6 мес.	$5,02 \pm 0,02$	124	$2,85 \pm 0,04$	84	$< 0,001^*$
	12 мес.	$4,97 \pm 0,02$	120	$2,69 \pm 0,03$	79	$< 0,001^*$
	24 мес.	$5,03 \pm 0,02$	112	$2,20 \pm 0,02$	71	$< 0,001^*$

Примечания: ВКД – внутрикостный; САД – супраальвеолярный; ФД – фуркационный;
* – различия показателей статистически значимы.

В обеих группах наилучший эффект отмечен при внутрикостных дефектах (ВКД): в ОГ прирост ЗДП составил $7,06 \pm 0,01$ мм, т.е. дефект устранен на 88,8 %; в КГ прирост ЗДП $5,30 \pm 0,02$ мм, т.е. 70,6 % восстановлено. При традиционном подходе супраальвеолярные (САД) и фуркационные (ФД) дефекты остаются сложными для коррекции: прирост ЗДП минимален и в конце периода наблюдения составил 31,7 % при САД и 30,3 % при ФД. При включении в схему лечения аутотрансплантации СВФ-ЖТ результаты значительно улучшаются: в ОГ получен прирост ЗДП при САД и ФД, сопоставимый с результатами восстановления ВКД – 62,8 % и 64,7 % соответственно.

У пациентов, получивших лечение ХПСТС с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ, регистрировалась минимальная усадка нового мягкотканевого профиля или ее полное отсутствие. Средние значения показателя рецессии десневого края во все сроки послеоперационного наблюдения, вплоть до 24 месяцев, были статистически значимо меньше в ОГ, чем в КГ ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента). Закрытие оголенных корневых поверхностей зубов воспринималось пациентами как важный косметический эффект операции.

Аппаратная периотестометрия свидетельствует о полном восстановлении опорной функции пародонта у пациентов ОГ, в то время как у большинства пациентов КГ сохранялась патологическая подвижность. Среднее значение периотеста через 24 мес. после операции составило в ОГ $3,8 \pm 0,1$ балла (соответствует градации «прочная позиция зуба»), а в КГ $15,6 \pm 0,3$ балла («I степень подвижности») ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

Прирост рентгеноконтрастных структур преобладал в области дефектов, для устранения которых применялась СВФ-ЖТ. Рентгенологическая плотность околозубной кости увеличилась от первоначальных значений в среднем на 72 % и 49 % в ОГ и КГ соответственно.

Результаты морфологической оценки убеждают в существенном индуцирующем влиянии СВФ-ЖТ на восстановление поврежденных тканей опорного аппарата зуба, что подтверждается обнаружением в биопсийном материале, полученном в ранние сроки от пациентов ОГ, множественных участков тканевого ремоделирования при отсутствии признаков воспалительной клеточной инфильтрации. Среднее значение плотности микрососудов на срезах регенериру-

ющих тканей было почти в 2 раза выше в ОГ по сравнению с КГ: $58,2 \pm 10,2$ и $30,1 \pm 7,5$ единиц на 1 мм^2 соответственно ($p = 0,047$ по t-критерию Стьюдента).

Получены результаты, демонстрирующие безопасность и эффективность клеточно-потенцированного подхода в лечении больных с одонтогенными кистозными образованиями челюстей (ОКОЧ).

Из зарегистрированных 17 случаев послеоперационных осложнений только 1 случай пришелся на ОГ (частота осложнений 1,7 % и 23,9 % в ОГ и КГ соответственно). Осложнения были связаны с инфицированием наполнителя постцистэктомической костной полости – сгустка крови или остеопластического материала. Применение СВФ-ЖТ снижает такой риск путем лучшей окклюзии раны, создания функционального матрикса для миграции и взаимодействия иммунокомпетентных клеток. Относительно новой является информация о возможности секреции ММСК паракринных факторов с антибактериальными свойствами (Mezey E., Nemeth K., 2015; Sung D.K. et al., 2016).

К концу полного периода наблюдения положительный клинический результат лечения, подразумевающий отсутствие осложнений и рецидивов, сохранение причинных зубов, установлен в 56 из 58 случаев ОГ и в 32 из 67 случаев КГ, что составило 96,6 % и 47,8 % соответственно ($p < 0,05$ по точному критерию Фишера).

По данным статистического анализа, риск отрицательного результата (осложнения и рецидивы воспалительно-деструктивного процесса, формирование свищей, повторные операции, в том числе с экстракцией причинных зубов) при лечении ОКОЧ по новой методике с применением СВФ-ЖТ в 15,4 раза ниже, чем при реализации общепринятых методов (взаимосвязь исхода с видом лечения статистически значима, $p < 0,05$; 95 % ДИ 0,017–0,263).

В связи с разным составом сравниваемых групп по размерам дефекта, показатели клинической эффективности сопоставлялись отдельно для каждого размера (таблица 6).

В результате анализа, проведенного с помощью точного критерия Фишера, установлены статистически значимые различия частоты положительных исходов лечения среди пациентов с размерами дефектов от 10 до 20 мм и от 21 до 30 мм: 94,4–100 % в ОГ, менее 8,7 % в КГ ($p < 0,001$).

Таблица 6 – Клиническая эффективность лечения больных с кистозными образованиями челюстей

Размер дефекта, мм	Основная группа		Контрольная группа		p
	Результат лечения, абс. (%)		Результат лечения, абс. (%)		
	положительный	отрицательный	положительный	отрицательный	
< 10	5 (100)	0	25 (69,4)	11 (30,6)	0,300
10–20	17 (94,4)	1 (5,6)	2 (8,7)	21 (91,3)	< 0,001*
21–30	26 (100)	0	0	2 (100)	< 0,001*
> 30	8 (88,9)	1 (11,1)	5 (83,3)	1 (16,7)	> 0,05
Все размеры	56 (96,6)	2 (3,4)	32 (47,8)	35 (52,2)	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

Несмотря на близкие показатели эффективности лечения кист размерами более 30 мм (88,9 % и 83,3 %, $p > 0,05$), результат лечения больших кист в КГ методом цистотомии, даже при отсутствии осложнений и рецидивов, по полноте восстановления челюстной кости весьма условно может быть отнесен к положительному.

Эффективность лечения кистозных образований размерами менее 10 мм выше в ОГ, чем в КГ, хотя различия показателей не достигают уровня статистической значимости (100 % и 69,4 %, $p = 0,300$).

Динамика показателей аппаратного периотеста свидетельствует о ранней стабилизации подвижных зубов с полным восстановлением опорной функции кости после остеопластики с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. В результате традиционного лечения патологическая подвижность вовлеченных в кисту зубов уменьшается незначительно. Сравнение итоговых значений периотеста в конце полного периода наблюдения подтверждает превосходящую эффективность нового способа лечения над традиционным: $2,8 \pm 1,1$ против $15,0 \pm 2,1$ балла в ОГ и КГ соответственно ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

В ОГ уже через 6 месяцев отмечалось равномерное заполнение больших дефектов челюстей рентгенологически плотными структурами без просветления в центральной зоне, как это часто наблюдалось в контроле. В отдаленные сроки наблюдения (12 и 24 мес.) в большинстве случаев на рентгенограммах исходные границы дефектов не определялись, визуализировалась равномерная трабекулярная структура восстановленной кости.

Компьютерная томография подтверждает возврат к нормальной анатомии челюстей в ОГ без остаточных деформаций альвеолярной дуги, со сформированным кортексом и губчатой костью в межкортикальной зоне. Рентгенологическая плотность регенерата в среднем по группе составляла 767 ± 184 НУ, что соответствует показателям нормальной минерализованной костной ткани. В отдаленные сроки после лечения с СВФ-ЖТ отсутствовали рентгенологические признаки резорбции вновь сформированных структур, а также анкилоза или резорбции корней сохраненных зубов. Пример рентгенологического результата лечения большой кисты с применением СВФ-ЖТ представлен на рисунке 4.



Рисунок 4 – Радикулярная киста верхней челюсти пациента Т. 16 лет: а) интраоперационный вид дефекта; б) КТ до лечения; в) КТ через 2 года после цистэктомии и остеопластики с аутотрансплантацией в костный дефект СВФ-ЖТ с костной крошкой – дефект устранен, кортикальная пластинка восстановлена, челюсть имеет нормальную рентгеноанатомию

В КГ, судя по рентгенологическим данным, полное восстановление кости произошло только в небольших дефектах альвеолярного гребня. Дефекты размером более 10 мм плохо поддавались остеорепарации, формирование рентгенологически соответствующих кости структур наблюдалось только по периферии, при этом исходные границы дефекта часто оставались определяемыми. Результаты денситометрии позволяют заключить о наличии остаточной полости или формировании плотных, но не костных структур в центральных участках регенерата.

Согласно результатам гистологического исследования, в дефектах малого размера (до 10 мм) репаративный остеогенез проходил идентично в группах сравнения и завершался формированием полноценной кости. Заживление костных дефектов среднего и большого размеров зависело от проводившегося лечения.

После лечения с применением СВФ-ЖТ в ближайшие сроки регенерат был представлен ретикулофиброзной костной тканью, равномерно заполняю-

щей дефект, независимо от его размера; в дальнейшем наблюдалось «созревание» регенерата до пластинчатой кости остеонного строения. Сопровождающими процесс остеогенеза клеточными формами были фибробластоподобные клетки, остеобласты, остециты, остеокласты, умеренное количество мононуклеаров и гранулоцитов.

Заживление больших костных дефектов в отсутствие дополнительного источника регенеративных клеток и стимулов в виде СВФ-ЖТ протекало неполноценно. В ближайшие сроки в гистологических образцах от пациентов КГ определялся полиморфный регенерат из рыхлой волокнистой соединительной ткани с участками грубоволокнистой кости и хондроидной ткани. В отдаленные сроки регенерат был топически дифференцированным: в прикраевой зоне костной полости выявлялась зрелая кость, в то время как в центре – умеренно васкуляризованная волокнистая соединительная ткань. Клеточное сопровождение остеогистогенеза в КГ отличалось от такового в ОГ большим наличием лимфомакрофагальных элементов, часто в виде инфильтратов.

Применение аутологичной СВФ-ЖТ в качестве источника регенеративных клеток и стимулов в комбинации с остеокондуктивными биоматериалами повышает эффективность предимплантационной аугментации и реконструкции челюстей.

Осложнения синуслифтинга включали 2 случая перфорации мембраны Шнайдера (по одному случаю в КГ и ОГ), 2 случая фиброзной инкапсуляции остеопластического материала (оба случая в КГ). Анализ частоты осложнений синуслифтинга не выявил статистически значимых различий групп сравнения по этому признаку ($p > 0,05$).

После реконструкции челюстного альвеолярного гребня ранняя несостоятельность швов, обусловленная избыточным натяжением покровных мягких тканей, особенно при тонком десневом фенотипе, наблюдалась в 15,8 % случаев ОГ и в 27,7 % случаев КГ (различия статистически незначимы, $p = 0,131$ по критерию хи-квадрат). При этом благоприятный исход с заживлением вторичным натяжением отмечался у большинства пациентов ОГ и лишь у четверти пациентов КГ: 89 % и 22 % соответственно. В остальных случаях наблюдалось инфицирование раны с утратой части или всего трансплантата.

Общая частота осложнений, развившихся в разные сроки после операции и приведших в итоге к полной или частичной утрате трансплантата, составила 0,9 % и 13,7 % в ОГ и КГ соответственно ($p < 0,001$ по точному критерию Фишера).

Статистический анализ частоты осложнений реконструкции альвеолярного гребня в группах сравнения свидетельствует о большей безопасности лечения с применением костнопластических материалов, содержащих СВФ-ЖТ. Установлено, что в случае экспозиции костнопластического материала вероятность дальнейшего инфицирования и потери трансплантата в 7 раз ниже в ОГ по сравнению с КГ (ОР 0,143; 95 % ДИ 0,022–0,922; $p < 0,05$). Это может быть связано с известными эффектами СВФ-ЖТ, включая антибактериальное действие входящих в состав фракции мезенхимальных стромальных клеток (Mezey E., Nemeth K., 2015; Sung D.K. et al., 2016), иммуномодулирование с увеличением доли фагоцитирующих М2-макрофагов (Dong Z. et al., 2013; Bowles A.C. et al., 2017), неоангиогенез и ускоренную реперфузию трансплантата (Парфенова Е.В. и соавт., 2006; Zakhari J.S. et al., 2018).

Результаты измерений альвеолярного гребня до операции и через 6–8 месяцев после нее (перед дентальной имплантацией) в группах сравнения представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Размеры альвеолярного гребня (в мм) до и после реконструкции

Показатель	Контрольный срок	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
Высота	До операции	5,04 ± 0,16	112	5,49 ± 0,17	117	0,055
	6–8 мес.	9,37 ± 0,15	112	7,79 ± 0,14	116	< 0,001*
	p ₁	< 0,001*		< 0,001*		
Ширина	До операции	3,13 ± 0,06	112	3,46 ± 0,01	117	< 0,001*
	6–8 мес.	8,21 ± 0,16	112	7,63 ± 0,05	116	< 0,001*
	p ₁	< 0,001*		< 0,001*		

Примечания: p – уровень значимости различий показателей между группами; p₁ – уровень значимости различий показателей группы в разные контрольные сроки; * – различия показателей статистически значимы.

В результате операции в обеих группах с помощью парного t-критерия Стьюдента зарегистрирован статистически значимый прирост высоты и ширины реконструируемого участка челюсти ($p < 0,001$), получен достаточный объем

опорной кости для проведения дентальной имплантации. При сравнении между группами средняя высота доступной кости, включая реконструированный участок, в ОГ на 20,3 % превысила показатель КГ, ширина – на 7,6 % (различия показателей между группами значимы при $p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

Рентгенологические и визуальные различия восстановленной разными способами кости проиллюстрированы случаем билатеральной реконструкции альвеолярного отростка верхней челюсти (рисунок 5).

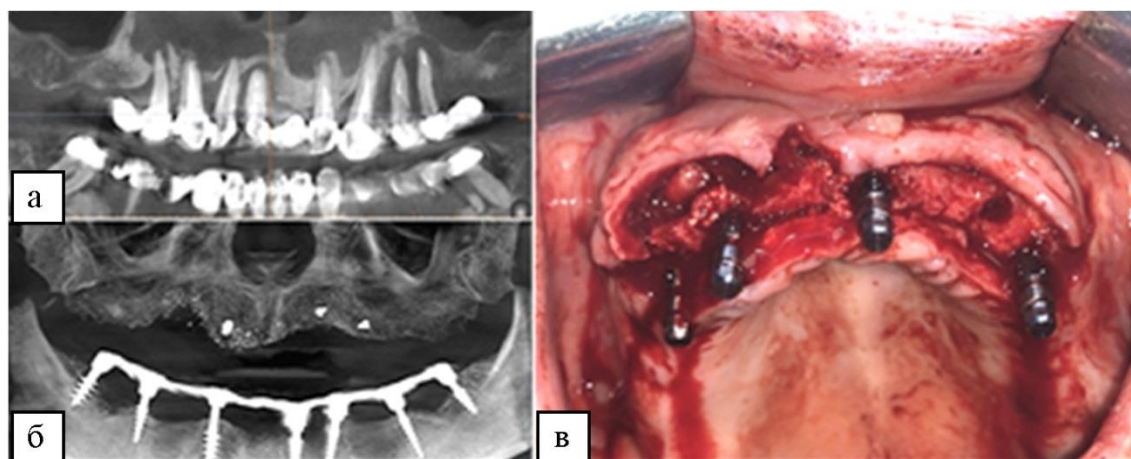


Рисунок 5 – Состояние альвеолярного гребня верхней челюсти пациентки Б. 52 лет до и после билатеральной реконструкции с использованием ординарных (1-й сегмент) и содержащих СВФ-ЖТ (2-й сегмент) костнопластических материалов: а) КТ до лечения – генерализованный пародонтит, множественные кисты и кистогранулемы верхней челюсти, субтотальная атрофия альвеолярного гребня; б) КТ перед дентальной имплантацией – в 1-м сегменте не произошло формирования ожидаемого объема опорных тканей, определяется неоднородность структуры регенерата; во 2-м сегменте отмечается двукратное и равномерное увеличение альвеолярного гребня за счет формирования однородной трабекулярной структуры; в) установка ДИ, интраоперационное фото – в 1-м сегменте рыхлая кость с большим количеством неинтегрированных гранул остеокондуктора; во 2-м сегменте плотная однородная хорошо кровоснабжаемая кость

Использование СВФ-ЖТ в составе трансплантата улучшает заживление и регенерацию покрывных мягких тканей, способствуя приросту ширины прикрепленной/кератинизированной десны, существенно увеличивая размеры преддверия полости рта в зоне хирургического вмешательства, снижая риск десневой рецессии и периимплантита.

Через 2–3 месяца после установки внутрикостной части дентальных имплантатов (ДИ) проводилась первичная оценка стабильности, которая выявила

различия: в ОГ все имплантации были успешны, в КГ потребовалась реимплантация в 5 случаях ($p = 0,032$ по критерию хи-квадрат). Учитывая идентичность используемых ДИ, технологии их внедрения и послеоперационных нагрузочных условий, выявленные различия объясняются более высоким качеством опорной кости, восстановленной костнопластическим материалом, включающим СВФ-ЖТ.

В начальном нагрузочном периоде завершенной ортопедической конструкции показатель периимплантатной маргинальной костной потери (ПМКП) отражает реакцию опорной кости на жевательную нагрузку. Выявленные межгрупповые различия по этому показателю свидетельствуют о функциональных преимуществах опорной кости, восстановленной с применением СВФ-ЖТ (таблица 8).

Таблица 8 – Периимплантатная маргинальная костная потеря (в мм) в течение первого года после зубопротезирования

Уровень установки ДИ	Контрольный срок	Основная группа		Контрольная группа		p
		M ± m	n	M ± m	n	
СК	6 мес.	1,13 ± 0,04	109	1,64 ± 0,03	149	< 0,001*
	12 мес.	1,47 ± 0,08	109	2,88 ± 0,09	149	< 0,001*
	p ₁	< 0,001*		< 0,001*		
УрД	6 мес.	0,27 ± 0,01	188	0,98 ± 0,08	169	< 0,001*
	12 мес.	0,33 ± 0,03	188	1,69 ± 0,08	169	< 0,001*
	p ₁	0,059		< 0,001*		

Примечания: ДИ – денальный имплантат; СК – субкрестальная установка; УрД – установка в уровень десны; p – уровень значимости различий показателей между группами; p₁ – уровень значимости различий показателей группы в разные контрольные сроки; * – различия показателей статистически значимы.

При любом уровне установки имплантатов во все контрольные сроки ПМКП значимо меньше в ОГ по сравнению с КГ ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

В сроки до 5 лет в КГ из 318 первично остеоинтегрированных ДИ поздний периимплантит развился в области 21 искусственной опоры с потерей 11 из них, где разрушение опорной кости составило более 50 %. В ОГ в эти сроки признаки нарушения остеоинтеграции были выявлены в области 5 из 297 имплантатов с потерей 1 искусственной опоры как безнадёжной. Таким образом, пятилетняя выживаемость имплантатов в ОГ составила 99,7 %, в КГ – 96,5 % ($p = 0,006$ по точному критерию Фишера).

Пример успешной реабилитации пациента с вторичной адентией и выраженной атрофией беззубого участка нижней челюсти представлен на рисунке 6.

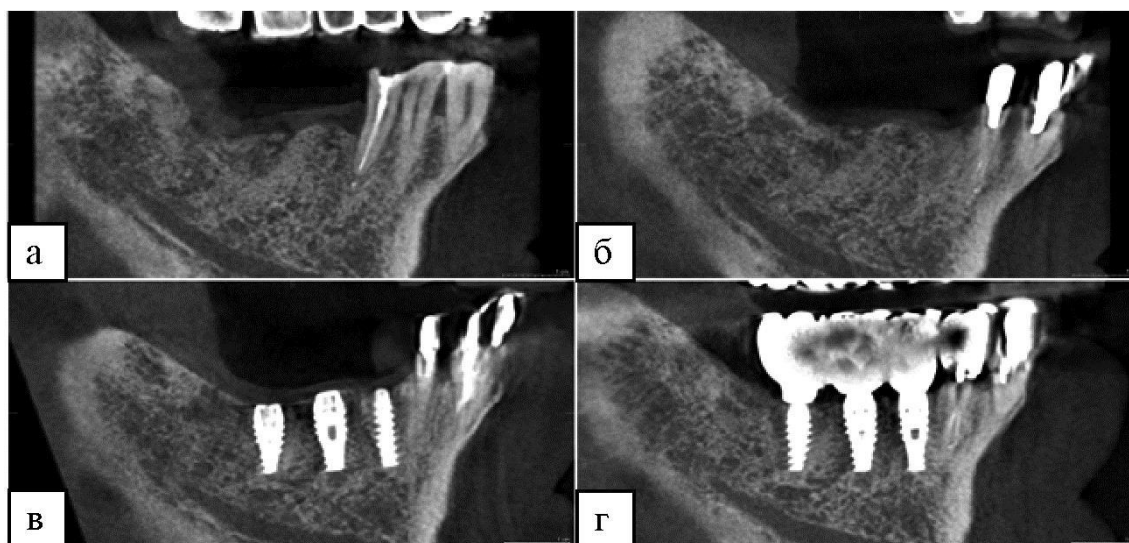


Рисунок 6 – Отдаленный клинический результат замещения концевых дефекта альвеолярного гребня и восстановления зубного ряда 4-го челюстного сегмента у пациента М. 61 года из основной группы исследования. Компьютерные томограммы: а) до лечения – неравномерная атрофия альвеолярного гребня, отсутствие 45, 46 и 47 зубов; б) через 6 месяцев после реконструкции с применением СВФ-ЖТ-содержащих костнопластических материалов – получен достаточный объем костной ткани для размещения ДИ; в) через 3 месяца после установки ДИ – структура и плотность околоимплантатной костной ткани свидетельствуют об успешной остеоинтеграции; г) через 24 месяца функционирования зубопротезных конструкций – отсутствует околоимплантатная маргинальная костная потеря, нет снижения высоты реконструированного альвеолярного гребня, высокая степень костно-имплантатного контакта

Согласно данным ряда исследований, совокупная выживаемость ДИ, установленных первично, без какой-либо хирургической подготовки реципиентного участка, через 5 лет составляет 95–100 % (Kim H.S. et al., 2018; Mameno T. et al., 2018; Raes M. et al., 2018). Следовательно, зарегистрированная в работе долгосрочная выживаемость имплантатов, установленных в альвеолярный гребень, реконструированный с использованием СВФ-ЖТ-содержащего костнопластического материала, сопоставима с показателями имплантации в нативную костную ткань. Это свидетельствует о значительном соответствии восстановленной кости природному образцу.

Для сравнительной оценки морфологических характеристик восстановленной кости в зависимости от состава трансплантата проведено гистологиче-

ское исследование трепанбиоптатов после однотипных операций синуслифтинга с наименьшим разнообразием вторичных признаков, способных повлиять на исход лечения (вид и объем костнопластического материала, свойства донорского ложа, сроки заживления и др.).

В материале обеих групп, полученном через 4–8 месяцев после операции, наблюдали минерализованную кость, остеоид и частицы костнопластического материала. Однако соотношение основных тканевых компонентов регенерата, их морфологические характеристики и распределение указывают на более продуктивный остеогенный процесс в ОГ по сравнению с КГ (таблица 9).

Таблица 9 – Основные морфологические компоненты субантрального регенерата (в процентах площади тканевого среза) в группах сравнения, $M \pm m$

Компоненты регенерата	Основная группа, n = 14	Контрольная группа, n = 13	p
Витальная минерализованная ткань	40,14 ± 3,36	24,23 ± 2,63	0,001*
Невитальная минерализованная ткань	13,31 ± 1,59	24,98 ± 1,97	< 0,001*
Неминерализованная ткань	47,11 ± 2,07	50,79 ± 2,10	0,224

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

По результатам гистоморфометрии относительная площадь витальной минерализованной, т.е. новообразованной костной ткани, в 1,7 раза больше на срезах трепанбиоптатов ОГ по сравнению с КГ (различия показателей статистически значимы, $p = 0,001$ по t-критерию Стьюдента). Относительная площадь невитальной минерализованной ткани, отражающая уровень остаточного нерезорбированного остеозамещающего материала, напротив, в 1,9 раз меньше в ОГ, чем в КГ ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента). Содержание неминерализованных тканей, включая костномозговую и фиброзную, несколько ниже в материале ОГ, по сравнению с КГ, однако разница статистически незначима ($p = 0,224$ по t-критерию Стьюдента).

СВФ-ЖТ в составе костнопластического материала создает условия для его более активной неоваскуляризации после имплантации в зону дефекта. По данным сравнительного иммуногистохимического исследования с маркером эндотелиальных прогениторных клеток CD34, плотность микрососудов на срезах субантрального остеорегенерата составила $63,1 \pm 8,1$ и $36,7 \pm 7,8$ единиц на

1 мм² в ОГ и КГ соответственно ($p = 0,033$ по t-критерию Стьюдента). Эти результаты подтверждают ангиогенные свойства СВФ-ЖТ и указывают на потенциал использования изучаемого регенеративного ресурса для создания васкуляризированной тканеинженерной остеозамещающей конструкции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты настоящего диссертационного исследования подтверждают на примере экспериментального остеогистогенеза высокие регенераторные свойства СВФ-ЖТ, предоставляют малоинвазивный стандартизованный протокол обработки жировой ткани человека для получения СВФ-ЖТ с установленными характеристиками, свидетельствуют о безопасности и высокой эффективности применения СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта.

ВЫВОДЫ

1. В экспериментальном исследовании на модели билатеральных челюстных дефектов локальная трансплантация аутологичной СВФ-ЖТ стимулирует восстановление кости, что подтверждается замещением большей площади дефекта оссифицированной структурой ($92 \pm 8 \%$ против $42 \pm 5 \%$ в контроле, $p < 0,001$), повышением средней рентгенологической плотности замещающих дефект тканей (108 ± 2 против 65 ± 6 ед. в контроле, $p < 0,001$). Остеорегенерирующий эффект СВФ-ЖТ верифицируется результатами гистологических исследований: в тестируемых условиях наблюдается формирование морфологически полноценной костной ткани с наиболее полным восстановлением органо-типической архитектоники по сравнению с заживлением кости в контрольных аналогичных условиях без применения фракции.

2. Предложенный протокол обработки жировой ткани человека позволяет получить стромально-васкулярную фракцию, основными морфологическими компонентами которой являются фибробластоподобные клетки, фрагменты микрососудов и волокнистые элементы стромы. Клетки жизнеспособны, *in vitro* активно размножаются и синтезируют компоненты межклеточного матрикса, демонстрируют иммунофенотип мультипотентных мезенхимальных стромаль-

ных клеток: CD13+, CD34-, CD44+, CD90+, CD105+. Количество клеток составляет в среднем $2,1 \pm 0,4 \times 10^6$ ядродержащих или $2,7 \pm 0,5 \times 10^4$ пластик-адгезивных на 1 мл обработанной жировой ткани.

3. Применение СВФ-ЖТ в ходе операции направленной регенерации тканей пародонта существенно улучшает клинические, функциональные и эстетические результаты лечения больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени, обеспечивая ускоренный регресс воспалительных симптомов с долгосрочной стабильностью клинических показателей состояния ротовой полости, повышенный прирост зубодесневого прикрепления ($5,66 \pm 0,02$ против $3,27 \pm 0,03$ мм, $p < 0,001$) с более полным и стойким восстановлением опорной функции пародонта и минимальной остаточной рецессией десневого края ($1,24 \pm 0,05$ против $2,91 \pm 0,07$ мм, $p < 0,001$) сравнительно с эффектами общепринятого лечения в контрольной группе. Разработанный способ лечения эффективен при всех видах пародонтальных дефектов, включая супраальвеолярные и фуркационные.

4. Внесенная в санированный и защищенный мембраной пародонтальный дефект СВФ-ЖТ создает оптимальные условия для запуска регенераторных процессов, что при сравнительном гистоморфологическом исследовании подтверждается обнаружением в восстанавливаемых тканях пародонта множественных участков тканевого ремоделирования с более высокой плотностью микрососудов по сравнению с контролем ($58,2 \pm 10,2$ против $30,1 \pm 7,5$ ед/мм², $p = 0,047$).

5. Применение СВФ-ЖТ при замещении объемных дефектов челюстей после удаления одонтогенных кистозных образований позволяет значительно снизить частоту послеоперационных осложнений (1,7 % против 23,9 %, $p < 0,001$), повысить частоту положительных клинических исходов без рецидивов воспалительно-деструктивного процесса в отдаленные сроки наблюдений (96,6 % против 47,8 %, $p < 0,001$), добиться более ранней и полной стабилизации подвижных зубов по сравнению с общепринятыми способами лечения.

6. Трансплантация СВФ-ЖТ обеспечивает релевантное клеточное со-
провождение и способствует полноценному протеканию каскадных процессов репаративной регенерации кости в области постцистэктомических костных дефектов. По результатам морфологических исследований, в ближайшие сроки

регенерат представлен ретикулофиброзной костной тканью, равномерно заполняющей дефект независимо от размеров, в дальнейшем наблюдается ремоделирование регенерата в пластинчатую кость остеонного строения. При заживлении больших костных дефектов в отсутствие дополнительного источника регенераторных клеток остеогистогенез характеризуется незавершенностью и топической избирательностью.

7. Реконструкция челюстного альвеолярного гребня с применением остеокондуктивных костнопластических материалов, содержащих аутологичную СВФ-ЖТ, позволяет значительно, по сравнению с существующей практикой, снизить частоту послеоперационных осложнений с полной или частичной утратой трансплантата (0,9 % против 13,7 %, $p < 0,001$), повысить успешность дентальной имплантации у пациентов с выраженным исходным дефицитом опорной костной ткани (99,7 % дентальных имплантатов функционируют 5 лет и более, в контроле – 96,5 %, $p = 0,006$).

8. Включение СВФ-ЖТ в состав остеокондуктивных костнопластических материалов улучшает их остеогенные свойства при синуслифтинге; по данным гистоморфометрии, содействует запуску интенсивной неоваскуляризации и ремоделированию с более высоким представительством в регенерате микрососудов ($63,1 \pm 8,1$ против $36,7 \pm 7,8$ ед/мм², $p = 0,033$) и жизнеспособной минерализованной костной ткани ($40,14 \pm 3,36$ % против $24,23 \pm 2,63$ %, $p = 0,001$), меньшей долей остаточного нерезорбированного матрикса ($13,31 \pm 1,59$ % против $24,98 \pm 1,97$ %, $p < 0,001$) по сравнению с трансформацией аналогичного ординарного остеопластического материала.

9. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани является доступным биобезопасным персонифицированным регенеративным ресурсом, применение которого повышает основные показатели эффективности хирургического лечения больных с периодонтальными и периапикальными воспалительно-деструктивными процессами челюстей на 49–73 %, а также стоматологической реабилитации пациентов с вторичной адентией при дегенеративных изменениях челюстного альвеолярного гребня на 9–20 %, что является существенным положительным результатом и свидетельствует о целесообразности внедрения разработанных методов восстановительно-реконструктивной хирургии в широкую клиническую практику.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для получения 0,5–1 мл концентрированной стромально-васкулярной фракции необходимо аспирационное извлечение 50 мл подкожной жировой ткани, ферментативная дигестия ее в 0,083 % растворе коллагеназы I типа (активность 180–290 ед/мг) в течение 20 минут при 37 °С, центрифугирование на скорости 2750–3000 об/мин в течение 20 минут. В качестве суспендирующей среды рекомендуется использовать 10 мл сыворотки крови пациента.

2. Для улучшения остеогенных свойств костнопластических материалов остеокондуктивной направленности рекомендуется комбинировать их с аутологичной СВФ-ЖТ в пропорции 2–4 части остеозамещающего материала на 1 объемную часть концентрированной фракции (объем осадка на дне пробирки после центрифугирования по протоколу). В качестве источника естественных остеоиндуктивных стимулов (костных морфогенетических белков и др.) целесообразно добавлять крошки аутологичной кости.

3. Операцию направленной регенерации тканей с введением в санированные и защищенные мембраной пародонтальные дефекты аутологичной СВФ-ЖТ следует использовать как метод выбора при лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, особенно при супраальвеолярных и фуркационных видах дефектов.

4. В восстановительной пародонтологии аутологичную СВФ-ЖТ рекомендуется использовать для изменения фенотипа покровных тканей с тонкого на толстый, увеличения зоны прикрепленной (кератинизированной) десны без дополнительных инвазивных мукогингивальных хирургических вмешательств, а также для устранения рецессии тканей пародонта.

5. Для восстановления кости в области постцистэктомических челюстных дефектов размерами более 10 мм рекомендуется использовать СВФ-ЖТ в комбинации с костнопластическими материалами и собственной кортикально-губчатой костью пациента, взятой трепаном из ретромолярной области, бугра верхней челюсти или беззубых участков альвеолярного гребня и измельченной в костной мельнице, с последующей адаптацией и фиксацией барьерной мембраны под мукопериостальным лоскутом. Сохранение зубов целесообразно для оптимального вторичного ремоделирования челюстной кости под функциональной нагрузкой.

6. При трехмерной регрессионной трансформации альвеолярного гребня челюстей после фиксации каркасов (аутологичные кортикальные блоки, ксеногенные или аллогенные костные блоки и пластины) в подготовленную зону регенерации кости рекомендовано вводить трансплантат из гранулированных остеопластических материалов в смеси с аутологичными СВФ-ЖТ и костной крошкой. Адаптация и фиксация реконструкта проводится с помощью резорбируемых мембран, помещаемых под расщепленный лоскут.

7. После реконструкции альвеолярного гребня рекомендовано применять системы остеоинтегрируемых дентальных имплантатов, способных перераспределять силы жевательного давления в реконструированной кости. Это способствует оптимальному протеканию процессов перестройки опорных структур во времени и лежит в основе подтвержденной эффективности функционирования искусственных опор в отдаленные сроки.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшая разработка темы может включать как фундаментальные, так и прикладные аспекты. Новейшая информация о биологии стволовых и стромальных клеток, уточненные представления об эффекторных механизмах клеточной трансплантации будут служить теоретической основой прогресса регенеративной и восстановительно-реконструктивной хирургии. Проблема недостатка клеточного материала для подготовки большого тканеинженерного трансплантата, а также неудобства, связанные с необходимостью повтора процедуры липоаспирации при серийной трансплантации, могут быть устранены путем разработки методов криоконсервации и накопления стромально-васкулярной фракции жировой ткани пациента (такие исследования нами уже проводятся). Данные о том, что стволовые клетки жировой ткани не содержат антигены главного комплекса гистосовместимости, делают перспективным изучение возможности использования клеточного материала аллогенного происхождения. С целью замещения протяженных дефектов актуальна разработка методов префабрикации – эктопического формирования васкуляризованного костного лоскута на основе засеянного клетками носителя, помещенного в мышцу или на артериовенозной петле. Большой потенциал имеет разработка технологии формирования кости *in situ*, когда обширный дефект одномоментно

замещают конструкцией из титановой сетки, заполненной гранулированным остеозамещающим материалом в комбинации с остеогенными клетками. Перспективны исследования 3D-биопринтинга тканеинженерных конструкций на основе стромальных клеток жировой ткани. Реализация такой технологии позволила бы создать функциональный матрикс-носитель сложной индивидуальной геометрии с оптимальным распределением жизнеспособных клеток.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ***Липоаспират как источник мезенхимальных стволовых клеток / В.Б. Карпюк, С.В. Коченова, К.Ю. Коченова, М.Г. Шубич // Кубанский научный медицинский вестник. – 2004. – № 5–6. – С. 31–35.**
2. Авторское свидетельство. Способ устранения морщин и омоложения кожи с помощью введения собственной жировой ткани, обогащенной аутологичными мезенхимальными стволовыми клетками / **В.Б. Карпюк, М.Г. Шубич.** – Деп. в РАО 06.12.2004, № 7993. – 3 с.
3. ***Карпюк, В.Б. Сравнительная характеристика мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и жировой ткани / В.Б. Карпюк, С.В. Коченова, М.Г. Шубич // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2005. – № 2. – С. 46–51.**
4. ****Использование клеточных технологий в современной пародонтологии / М.Д. Перова, А.В. Фомичева, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2006. – № 4. – С. 3–9.**
5. ***Оценка роста нового зубодесневого прикрепления после ауто-трансплантации стромальных клеток, выделенных из жировой ткани / М.Д. Перова, А.В. Фомичева, Е.А. Фомичева, В.Б. Карпюк // Пародонтология. – 2006. – № 4. – С. 28–31.**
6. ****Возможности использования стволовых стромальных клеток в регенерации тканей пародонта и их взаимодействие с тканевым микроокружением / М.Д. Перова, М.Г. Шубич, В.Б. Карпюк [и др.] // Морфология. – 2007. – Т. 131. – № 3. – С. 7–15.**
7. Замещение больших дефектов нижней челюсти путем остеогенной трансформации аутотрансплантированных стромальных клеток жировой ткани

(экспериментальное исследование) / **В.Б. Карпюк**, М.Д. Перова, В.А. Козлов [и др.] // XII Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 22–24 мая 2007 г. – С. 103–104.

8. *Перова, М.Д. Клинико-гистологические результаты клеточной терапии при тяжелом пародонтите / М.Д. Перова, А.В. Фомичева, **В.Б. Карпюк** // Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – № 1–2. – С. 142–146.

9. Характеристика первых результатов лечения развившегося пародонтита методом аутотрансплантации васкулярно-клеточной фракции / М.Д. Перова, А.В. Фомичева, В.А. Козлов, **В.Б. Карпюк** // XII Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии. Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 22–24 мая 2007 г. – С. 160–161.

10. *Экспериментальная модель реконструкции кости путем остеогенной трансформации аутотрансплантированных свежевыделенных стромальных клеток жировой ткани / **В.Б. Карпюк**, М.Д. Перова, В.А. Козлов [и др.] // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2007. – № 4. – С. 14–18.

11. **Karpiuk, V.** Autologous Adipose Tissue-Derived Stromal Cells Transplantation for Treatment of Critical Mandibular Defect in Guinea-Pig Model / **V. Karpiuk**, O. Ponkina, M. Schubich // The 14th International Congress of the International Confederation for Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. June 26–30, 2007. – Berlin, Germany. Abstracts on CD-ROM. P/REE 11.

12. Оценка условий для повышения эффективности аутотрансплантации нижнечелюстных костных блоков / М.Д. Перова, В.А. Козлов, Е.А. Мельник, **В.Б. Карпюк** // XIII Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 20–22 мая 2008 г. – С. 172–173.

13. ***Пат. № 2320285 Российская Федерация, С2 А61В 17/24. Способ восстановления кости альвеолярного гребня челюсти и тканей пародонта с редуцированным регенераторным потенциалом / М.Д. Перова, **В.Б. Карпюк**, А.В. Фомичева, Е.А. Фомичева, М.Г. Шубич ; заявитель

и патентообладатель. – Перова М.Д. – № 2006116152; заявл. 10.05.2006; опубл. 27.03.2008; Бюл. № 9. – 7 с.

14. ***Пат. № 2336841 Российская Федерация, С2 А61В 17/56 А61К 38/39 А61Р 19/00. Способ костной пластики в эксперименте / В.Б. Карпюк; заявитель и патентообладатель. – Карпюк, В.Б. – № 2006137868; заявл. 26.10.2006; опубл. 27.10.2008; Бюл. № 30. – 6 с.

15. *Карпюк, В.Б. К изучению свежевыделенных аутологичных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, М.Г. Шубич // Институт стоматологии. – 2009. – № 3. – С. 74–76.

16. **Карпюк, В.Б. Коррекция седловидной деформации спинки носа с помощью аутотрансплантации стромальных клеток жировой ткани в композиции с измельченной костью / В.Б. Карпюк // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2009. – № 4. – С. 14–17.

17. Аутотрансплантация свежевыделенных стромальных клеток жировой ткани для восстановления кости при лечении корневых кист челюстей / М.Д. Перова, В.Б. Карпюк, Е.А. Мельник, М.Г. Шубич // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2010. – Приложение. Тезисы второго (VII) съезда Российского общества пластических, реконструктивных и эстетических хирургов. 1–2 декабря 2010 г. – С. 105–106.

18. Возможности аутогенной васкулярно-стромальноклеточной фракции для восстановления кости при лечении корневых кист челюстей / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк, В.А. Козлов // XV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 17–19 мая 2010 г. – С. 140–142.

19. Перова, М.Д. Клинико-гистологическая оценка результатов лечения одонтогенных кист челюстей / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк // Общероссийская научно-практическая конференция стоматологических кафедр КГМУ «Современные вопросы стоматологии». Материалы конференции. – Краснодар, 20–22 мая 2010 г. – С. 153–157.

20. *Карпюк, В.Б. Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в эстетической ринопластике / В.Б. Карпюк // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2010. – № 4. – С. 85–86.

21. Перова, М.Д. Результаты хирургического лечения больших радикулярных кист с использованием аутологичных стромальных клеток жировой ткани / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, **В.Б. Карпюк** // Новое в теории и практике стоматологии: материалы IX научно-практической конференции : сб. науч. работ / Под ред. д.м.н., профессора К.Г. Каракова, д.м.н., профессора Е.А. Брагина. – Ставрополь : Изд-во. СтГМА, 2010. – С. 131–134.

22. ***Новые возможности замещения больших дефектов челюстей при лечении одонтогенных кист с помощью васкулярно-стромальноклеточной фракции** / М.Д. Перова, В.А. Козлов, **В.Б. Карпюк** [и др.] // Институт стоматологии. – 2011. – № 1. – С. 107–109.

23. **Карпюк, В.Б.** Применение васкулярно-стромальноклеточной фракции жировой ткани для коррекции эстетических дефектов и диспропорций челюстно-лицевой области / **В.Б. Карпюк** // XVI Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 16–18 мая 2011 г. – С. 96.

24. ***Карпюк, В.Б.** Сравнительная оценка жизнеспособности клеток аспирированной жировой ткани. Методологические аспекты липофилинга / **В.Б. Карпюк, П.М. Лаврешин, А.А. Маркушин** // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2011. – № 4. – С. 83–86.

25. **Karpiuk, V.** Adipose tissue-derived stromal vascular fraction with bone chips – a new autologous grafting material in aesthetic rhinoplasty / **V. Karpiuk** // Abstracts of the 16th World Congress of the International Confederation for Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. May 21–27, 2011, Vancouver, Canada / Can. J. Plast. Surg. – 2011. – Vol. 19, Suppl. A. – P. 143A.

26. Replacement of the great jaw bone defects with processed lipoaspirate cells autografting / M. Perova, **V. Karpiuk**, E. Melnick, M. Shubich // Abstracts of the 16th World Congress of the International Confederation for Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery. May 21–27, 2011, Vancouver, Canada / Can. J. Plast. Surg. – 2011. – Vol. 19, Suppl. A. – P. 139A.

27. Comparative evaluation of the cell viability in harvested by different techniques liposuction aspirates / **V. Karpiuk, P. Lavreschin, M. Perova, M. Schubich** //

Abstracts of the 1st ISPRES Congress, 9–11 March, 2012, Rome, Italy. – Abstracts on CD.

28. Некоторые аспекты клеточного поведения после аутотрансплантации васкулярно-стромальной фракции процессированного липоасpirата у больных пародонтитом средней и тяжелой степени / М.Д. Перова, Т.В. Гайворонская, **В.Б. Карпюк**, А.В. Тропина // Актуальные вопросы в теории и практике стоматологии (юбилейный сборник научных трудов) / ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Министерство здравоохранения Краснодарского края. – М., Краснодар, 2013. – С. 266–271.

29. *Характеристика степени замещения пародонтальных дефектов разной топографии после аутотрансплантации васкулярно-стромальноклеточной фракции липоасpirата / М.Д. Перова, Т.В. Гайворонская, **В.Б. Карпюк**, А.В. Тропина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 6(141). – С. 142–148.

30. *Изучение эффективности применения васкулярно-стромальноклеточной фракции при контурной пластике мягких тканей лица (по данным МРТ на примере липофилинга губ) / **В.Б. Карпюк**, П.М. Лаврешин, М.Г. Шубич [и др.] // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2014. – № 3. – С. 57–63.

31. *Карпюк, В.Б. Клеточные технологии в восстановительной хирургии опорных и мягких тканей челюстно-лицевой области / **В.Б. Карпюк**, П.М. Лаврешин, М.Д. Перова // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2015. – № 3. – С. 87–96.

32. *Оценка аутотрансплантации соединительнотканного нёбного лоскута в сочетании с васкулярно-стромальноклеточной фракцией липоасpirата при тканевой рецессии (10 лет наблюдений) / М.Д. Перова, Н.В. Лапина, **В.Б. Карпюк** [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2016. – Т. 20. – № 5. – С. 260–266.

33. *Оценка эффективности аутотрансплантации обогащённой васкулярно-стромальноклеточной фракцией жировой ткани при контурной пластике мягких тканей лица / **В.Б. Карпюк**, П.М. Лаврешин, М.Д. Перова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 4(159). – С. 57–63.

34. ***Карпюк, В.Б. Клеточно-потенцированные технологии с применением стромально-васкулярной фракции в пластической хирургии лица / В.Б. Карпюк, П.М. Лаврешин, Т.В. Гайворонская // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики, Серия «Естественные и технические науки». – 2017. – № 6. – С. 94–98.**

35. Стромальные клетки жировой ткани в регенеративной хирургии (обзор литературы) / **В.Б. Карпюк, В.А. Порханов, М.Д. Перова, И.В. Гилевич // Инновационная медицина Кубани. – 2018. – № 3 (11). – С. 64–71.**

36. ***Влияние хирургического лечения пародонтита с дополнительным источником регенерации на состояние околоимплантатных тканей / М.Д. Перова, В.Б. Карпюк, В.А. Козлов [и др.] // Институт стоматологии. – 2018. – № 4 (81). – С. 37–39.**

37. ***Результаты устранения регрессионной трансформации альвеолярного гребня челюстей с применением стромально-васкулярной фракции жировой ткани / М.Д. Перова, В.Б. Карпюк, И.В. Гилевич, И.А. Севостьянов // Кубанский научный медицинский вестник. – 2019. – Т. 26. – № 2 – С. 71–84.**

38. **Карпюк, В.Б. Клинико-эстетическая оценка клеточно-потенцированных способов устранения дефектов и деформаций лицевого скелета / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, В.А. Козлов // XXIV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 14–16 мая 2019 г. – С. 94–95.**

39. Перова, М.Д. Клинико-морфологическая оценка состояния альвеолярного гребня челюстей после клеточно-потенцированной реконструкции / М.Д. Перова, **В.Б. Карпюк, В.А. Козлов // XXIV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Материалы конференции. – Санкт-Петербург, 14–16 мая 2019 г. – С. 103–105.**

40. ****Cell-potentiated regenerative technologies for restoring jaw bone tissues in case of odontogenic inflammatory & destructive process / V. Karpyuk, M. Perova, I. Gilevich [et al.] // Archiv euromedica. – 2019. – Vol. 9. – № 2. – P. 140-146.**

41. ****Karpyuk, V. Innovation-based approach in reconstruction of reduced jaw alveolar ridge bone using cell regeneration technologies / V. Karpyuk,**

М. Perova, D. Domenyuk // Archiv euromedica. – 2019. – Vol. 9. – № 2. – P. 147-155.

*** – Работа опубликована в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.**

**** – Работа опубликована в издании, входящем в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованном ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.**

***** – Патенты**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ААГЧ	– атрофия альвеолярного гребня челюстей
ВКД	– внутрикостный дефект
ЗДП	– зубодесневое прикрепление
ИВК	– индекс восстановления кости
КТ	– компьютерная томография
КГ	– контрольная группа
ЛА	– липоаспират
ММСК	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки
ММСК-ЖТ	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани
ММСК-КМ	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга
МСК	– мезенхимальные стволовые клетки
НРТ	– направленная регенерация тканей
ОГ	– основная группа
ОКОЧ	– одонтогенные кистозные образования челюстей
САД	– супраальвеолярный дефект
СВФ-ЖТ	– стромально-васкулярная фракция жировой ткани
ФД	– фуркационный дефект
ХПСТС	– хронический пародонтит средней и тяжелой степени